



PATENT
0051-0212P

IN THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: Atsushi MIYAWAKI et al. Conf.:
Appl. No.: 10/662,355 Group:
Filed: September 16, 2003 Examiner:
For: MICROSCOPE SYSTEM

L E T T E R

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

November 18, 2003

Sir:

Under the provisions of 35 U.S.C. § 119 and 37 C.F.R. § 1.55(a), the applicant(s) hereby claim(s) the right of priority based on the following application(s):

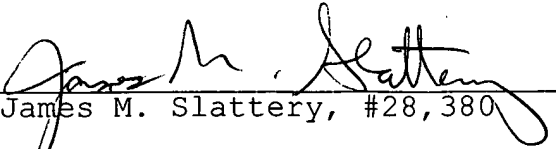
<u>Country</u>	<u>Application No.</u>	<u>Filed</u>
JAPAN	2002-270203	September 17, 2002

A certified copy of the above-noted application(s) is(are) attached hereto.

If necessary, the Commissioner is hereby authorized in this, concurrent, and future replies, to charge payment or credit any overpayment to Deposit Account No. 02-2448 for any additional fee required under 37 C.F.R. §§ 1.16 or 1.17; particularly, extension of time fees.

Respectfully submitted,

BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP

By 
James M. Slattery, #28,380

JMS/mag
0051-0212P

P.O. Box 747
Falls Church, VA 22040-0747
(703) 205-8000

Attachment(s)

SN: 10/662,355
DN: 51-212P
Inv.: A. MIYAWAKI et al.
Filed: 9-16-03

日本国特許庁 BSKB 703-205-8000
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2002年 9月17日
Date of Application:

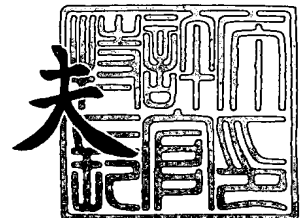
出願番号 特願2002-270203
Application Number:
[ST. 10/C]: [JP 2002-270203]

出願人 理化学研究所
Applicant(s):

2003年 9月30日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



出証番号 出証特2003-3080310

【書類名】 特許願

【整理番号】 13869601

【提出日】 平成14年 9月17日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G02B 21/18

【発明の名称】 顕微鏡装置

【請求項の数】 9

【発明者】

 【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所内

 【氏名】 宮 脇 敦 史

【発明者】

 【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所内

 【氏名】 深 野 天

【特許出願人】

 【識別番号】 000006792

 【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号

 【氏名又は名称】 理化学研究所

【代理人】

 【識別番号】 100075812

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 吉 武 賢 次

【選任した代理人】

 【識別番号】 100091982

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 永 井 浩 之

【選任した代理人】

 【識別番号】 100096895

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 岡 田 淳 平

【選任した代理人】

【識別番号】 100105795

【弁理士】

【氏名又は名称】 名 塚 聡

【選任した代理人】

【識別番号】 100106655

【弁理士】

【氏名又は名称】 森 秀 行

【選任した代理人】

【識別番号】 100117787

【弁理士】

【氏名又は名称】 勝 沼 宏 仁

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 087654

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 顕微鏡装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

制御電気信号を生成する制御手段と、

光源から出射した光束が照射される照射面を有し、前記制御電気信号を受け前記照射面の反射特性または透過特性を前記制御電気信号で指定される空間的周波数で空間的変調可能な空間的変調手段と、

前記空間的変調手段によって空間的変調された光束を試料に照射する照射光学手段と、

前記照射光学手段によって照射され前記試料から生じる信号光からなる信号画像を検出する画像検出手段と、

前記制御手段によって前記空間的周波数に係る異なる少なくとも 3 個の位相を設定し、各々の前記位相毎に前記画像検出手段によって検出した前記信号画像を互いに演算し光学断層像を求める演算手段と、
を備えることを特徴とする顕微鏡装置。

【請求項 2】

前記制御手段は、前記空間的周波数を設定することにより前記光学断層像の厚さを設定可能であることを特徴とする請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 3】

前記制御手段は、前記空間的変調手段の前記照射面を複数の領域に分割し、分割した各々の領域毎に個別的に前記空間的周波数を設定可能であることを特徴とする請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 4】

前記照射面の分割された前記複数の領域の各々は、前記光学断層像の厚さを個別的に設定することを求める前記試料の分割された観察領域に対応していることを特徴とする請求項 3 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 5】

前記照射面の分割された前記複数の領域の各々に対応する前記信号画像を一つのモニター面で観察可能なモニター手段を備えている

ことを特徴とする請求項 3 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 6】

前記空間的変調手段は、前記照射面が多数のマイクロミラーが配列されてなるデジタルマイクロミラーデバイスである

ことを特徴とする請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 7】

前記空間的変調手段は、前記照射面が多数の液晶セルが配列されてなる液晶デバイスである

ことを特徴とする請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 8】

前記空間的変調手段は、前記制御電気信号を受け前記照射面の反射特性または透過特性を正弦波状に空間的変調可能である

ことを特徴とする請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 9】

前記信号光は、反射光、透過光あるいは蛍光のいずれかである

ことを特徴とする請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、顕微鏡装置に係り、特に、光学断層像の厚さを調節可能な顕微鏡装置に関する。

【0002】

【従来の技術】

一般に、蛍光顕微鏡は、医学や生物学をはじめその他の分野において生物組織や細胞において蛍光標識を施したたんぱく質や遺伝子等を検出する目的で広く用いられている。特に近年では、複数の蛍光色素で染色した試料や複数の蛍光タンパク質を発現させた試料を観察する多重蛍光検出が、遺伝子の解析や、細胞内構

造の解明に威力を発揮している。

【0003】

特に、蛍光顕微鏡のなかでもレーザー共焦点顕微鏡は、通常の顕微鏡と異なり焦点があった部分のみの蛍光を検出し、焦点が外れた部分からの蛍光や散乱光を検出器の前に配置したピンホールによって除去して画像を形成するので、焦点があった部分のみの像（光学断層像）を得ることができ、コントラストが高い画像を得ることができる。

【0004】

また、近年市販されているレーザー顕微鏡としては、円盤上に異なる径のピンホールを複数配置したものが検出器の前に搭載され、それを回転させることによりピンホール径を選択できるようになっているものや、ピンホール径を可変絞りにしてピンホール径を可変選択できる機構を有するものがある。したがって、ユーザーは、観察中の試料の状態や形状、また、試料内の蛍光色素の量あるいは蛍光タンパク質の発現量に応じて最適なピンホール径を選択し、自由にその光学断層像の厚さを調整している。

【0005】

また、光学断層像を得る他の手段として縞投影法が特許 3066874 号公報（特許文献 1）に開示されている。この縞投影法では、光源から出射した光束を格子等に照射し格子等を透過した周期的な明暗のパターンで試料を照明し、試料をカメラで撮像する。周期的な明暗のパターンの位相を複数変えて撮像した複数の画像を演算することにより、周期的なパターンを除去するとともに、所望な位置における光学断層像が得られる。

【0006】

【特許文献 1】

特許 3066874 号公報

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、特許文献 1 に開示された方法では、明暗のパターンを生成する手段として、格子等を用いるため投影に使用される格子間隔によって周期的なパ

ターンの間隔が固定されてしまう。このため、試料を観察中に試料の状態や形状、また、試料内の蛍光色素の量あるいは蛍光タンパク質の発現量に応じて自由に光学断層像の厚さを調整することができない。これに対して、パターンの間隔が異なる複数の格子等を予め用意しておくことも考えられるが、格子等を取り替えるごとに光学系の再調整が必要であるため、試料観察中に格子等を迅速に取り替えることは困難である。また、明暗のパターンの位相を変えるには、格子等を移動させることによって行っているが、この場合、格子を移動させるときの移動距離の誤差によって位相シフトの誤差が生じ、最終的に得られる光学断層像が劣化してしまうという問題点もある。

【0008】

そこで、本発明の目的は、上記従来技術の有する問題を解消し、試料の観察中においても光学断層像の厚さを所望な値に迅速に設定可能な顕微鏡装置を提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するために、本発明の顕微鏡装置は、制御電気信号を生成する制御手段と、光源から出射した光束が照射される照射面を有し、前記制御電気信号を受け前記照射面の反射特性または透過特性を前記制御電気信号で指定される空間的周波数で空間的変調可能な空間的変調手段と、前記空間的変調手段によって空間的変調された光束を試料に照射する照射光学手段と、前記照射光学手段によって照射され前記試料から生じる信号光からなる信号画像を検出する画像検出手段と、前記制御手段によって前記空間的周波数に係る異なる少なくとも3個の位相を設定し、各々の前記位相毎に前記画像検出手段によって検出した前記信号画像を互いに演算し光学断層像を求める演算手段と、を備えることを特徴とする。

【0010】

また、前記制御手段は、前記空間的周波数を設定することにより前記光学断層像の厚さを設定可能であることを特徴とする。

【0011】

また、前記制御手段は、前記空間的変調手段の前記照射面を複数の領域に分割し、分割した各々の領域毎に個別的に前記空間的周波数を設定可能であることを特徴とする。

【 0 0 1 2 】

また、前記照射面の分割された前記複数の領域の各々は、前記光学断層像の厚さを個別的に設定することを求める前記試料の分割された観察領域に対応していることを特徴とする。

【 0 0 1 3 】

また、前記照射面の分割された前記複数の領域の各々に対応する前記信号画像を一つのモニター面で観察可能なモニター手段を備えていることを特徴とする。

【 0 0 1 4 】

また、前記照射面の分割された前記複数の領域の各々に対応する前記信号画像を一つのモニター面で観察可能なモニター手段を備えていることを特徴とする。

【 0 0 1 5 】

また、前記空間的変調手段は、前記照射面が多数のマイクロミラーが配列されてなるデジタルマイクロミラーデバイスであることを特徴とする。

【 0 0 1 6 】

また、前記空間的変調手段は、前記照射面が多数の液晶セルが配列されてなる液晶デバイスであることを特徴とする。

【 0 0 1 7 】

また、前記空間的変調手段は、前記制御電気信号を受け前記照射面の反射特性または透過特性を正弦波状に空間的変調可能であることを特徴とする。

【 0 0 1 8 】

また、前記信号光は、反射光、透過光あるいは蛍光のいずれかであることを特徴とする。

【 0 0 1 9 】

上述の発明において、空間的変調手段は制御電気信号によって照射面の反射特性または透過特性を指定される空間的周波数で空間的変調可能であるので、試料の観察中においても光学断層像の厚さを所望な値に迅速に設定することができる

。

【0020】

また、制御手段による制御電気信号によって空間的変調手段の空間的周波数を設定することにより容易に光学断層像の厚さを所望な値に設定することができる。

。

【0021】

また、空間的変調手段の照射面を複数の領域に分割し、分割した各々の領域毎に個別的に空間的周波数を設定可能であるので、試料の観察領域に適した光学断層像の厚さを個別的に設定することが可能になる。

【0022】

また、光学断層像の厚さが個別的に設定された複数の信号画面を必要に応じて一つのモニター面で見ることが可能になる。

【0023】

【発明の実施の形態】

以下に図面を参照して、本発明の実施の形態について説明する。

【0024】

まず図1を参照して本発明の第1の実施の形態について説明する。図1において、光源1は試料12を照明するためのものであり、水銀ランプ、キセノンランプ、発光ダイオード等の白色光源が用いられる。そして、光源1から出射した光は、コレクタレンズ2に入射される。このコレクタレンズ2は、光源1からの光を平行光束に変換するものである。コレクタレンズ2から出射した平行光束の光軸上には、シャッター3、拡散板4、レンズ5、平面鏡6が配置されている。シャッター3は、その開閉により試料12に光を照射するか否かを選択するものである。拡散板4は、入射した光を拡散させ、デジタルマイクロミラーデバイス（DMD）7を照明するときの照明ムラを低減するためのものである。レンズ5は、光がDMD7に入射する前に一度光を収束させ、DMD7上で発散光とすることでDMD7を照明したときにDMD7の周期的な構造によって発生する回折パターンの発生を除去するためのものである。DMDの構成および機能に関しては後述する。平面鏡6は、DMD7で反射した光が試料を最も強く照明できるよう

にDMD 7に入射する光源 1 からの入射角を調整するためのものである。

【0025】

DMD 7で反射した光は顕微鏡本体に導入される。DMD 7の法線上にレンズ 8、励起フィルタ 9、ダイクロイックミラー 10が配置されている。レンズ 8はDMD 7の各マイクロミラーで反射した光を平行光束に変換するためのものであり、DMD 7はレンズ 8の前側焦点位置に配置されている。励起フィルタ 9は、光源 1からの光のうち、所定の波長域のみを透過させる機能を有している。ダイクロイックミラー 10は、入射した光のうち所定の波長域を反射しそれ以外を透過させるものである。ダイクロイックミラー 10で反射した光は、対物レンズ 11を通過して試料 12を照明する。試料 12は、図示していないステージに載せられており、光軸方向に微動させることができる。後述するようにDMD 7に形成されるパターンの空間的周期に対応して光学断層像の厚さが定まり、一般的に、空間的周期が短いほどすなわち空間的周波数が高いほど、光学断層像の厚さが薄くなる。ここで、光学断層像の厚さとは、信号光が一体的に検出される厚さ範囲に関するものであり、いわゆる焦点深度に相当するものである。

【0026】

ステージ上の試料 12を光軸方向に微動させ、パターンの空間的周期に対応する光学断層像の厚さに対応する位置毎で撮像することにより、試料 12の複数の光学断層像が得られる。複数の光学断層像から立体的な像を形成することも可能である。また、ステージ上の試料 12を光軸方向に微動させ所望の位置に固定し、試料 12に対する刺激条件等を変えながらその位置における光学断層像の時間的变化に係る情報を得ることも可能である。

【0027】

顕微鏡本体の観察光路には、対物レンズ 11、ダイクロイックミラー 10、蛍光フィルタ 13、結像レンズ 14、CCDカメラ 15が配置されている。試料 12で発した蛍光は、対物レンズ 11を通過して平行光束に変換されたあと、ダイクロイックミラー 10を通過し、蛍光フィルタ 13で所定の波長域が選択的に透過された後、結像レンズ 14によりCCDカメラ 15の撮像面上に結像し撮像される。

【0028】

CCDカメラ15からの出力信号はコンピュータ16に内蔵されている記憶手段としてのフレームグラバ（不図示）に取り込まれる。フレームグラバで取り込まれた画像をもとに後述する演算が行われ、演算結果がモニター40に表示されるとともに、コンピュータ内のメモリに格納される。

【0029】

シャッター3は制御器17によりその開閉が制御され、また、制御器17はコンピュータ16からの信号により開閉の指示がされる。DMD7内の各マイクロミラーは制御器18からの電気信号によりその傾きが制御され、コンピュータ16上で形成されたパターンの信号は制御器18に送られ、その信号に応じてDMD7上そのパターンが形成される。また、シャッターの開閉と、DMD7のパターンの変更と、CCDカメラ15の撮像は同期して行うことができるようになっている。

【0030】

ここで、DMD7について説明する。

DMD7は2次元上に配置された複数の微小なミラー（マイクロミラー）で構成され、これらの複数の微小なミラーによってDMD7の照射面7aが形成されている。各マイクロミラーはそれぞれ独立に制御器18からの電気信号18aによってDMD7素子の法線に対して傾きを2通りに切り替えることができるようになっている。なお、本発明では、光源1から導かれた光を次にくる光学素子、たとえば図1の場合レンズ8の方向に光を導くことができるようにマイクロミラーの角度を電氣的にセットした場合をオンの状態といい、導かれない角度にセットした場合をオフの状態ということにする。そして、オンの状態では、光は顕微鏡本体に導入され、試料12が照明される。一方、オフの状態では、光は最終的に顕微鏡に導入されず、試料12は照明されない。また、各マイクロミラーは、パルス幅変調により単位時間あたりのオン状態の時間とオフ状態の時間の比を制御することにより、試料12に照射する強度を変化させることができる。したがって、DMD7を構成する全てのマイクロミラーごとに、そのオン状態、オフ状態、およびオン状態とオフ状態の比を制御することにより、光源1から導かれた

光のDMD 7上の強度分布に、DMD 7によって空間的に変調をかけることができる。単位時間あたりのオン状態とオフ状態の比を制御することを組み合わせることにより、例えば正弦波状の空間的変調が可能になる。また、DMD 7はレンズ8と対物レンズ11とで構成されるレンズ系に対して試料12の共役位置に配置されているため、DMD 7で空間変調がかけられた光源1からの光の強度分布は、試料12面上に縮小投影されて照明される。

【0031】

次に、このように構成した実施の形態の動作を説明する。

いま、光源1を点灯すると、光源1から発した光は、コレクタレンズ2により平行光束に変換され、拡散板4で拡散された後、レンズ5を通り、平面鏡6で反射された後、DMD 7を照明する。

【0032】

DMD 7に入射した光は、DMD 7上に形成されたパターンに応じてその光強度分布が空間的に変調された後、レンズ8を通り、励起フィルタ9を通り、ダイクロイックミラー10で反射され、対物レンズ11を通して試料12に空間的変調された光束として照射される。試料12では、この照射された光の強度分布に応じてその内の蛍光物質が励起され蛍光を発する。発した蛍光は対物レンズ11を通り、ダイクロイックミラー10、蛍光フィルタ13、結像レンズ14を通過し、CCDカメラ15で撮像される。撮像された画像はコンピュータ16内のフレームグラバに取り込まれる。

【0033】

光学断層像の演算は以下の手順にしたがって実行される。

以下では、1次元の周期的な強度分布をもつパターンを用いる場合を説明する。まず、試料12に照射すべき1次元の周期的な強度分布を持つパターン（例えば、正弦波）をコンピュータ16において生成する。生成されたパターンの信号を制御器18に送信すると、制御器18では受信したパターン信号に応じてDMD 7上の各マイクロミラーをオン状態、オフ状態を制御すべき信号を演算し、それをDMD 7に送信する。DMD 7はその信号に応じて各マイクロミラーのオン状態、オフ状態を決定してDMD 7上にパターンを形成する。ここで、コンピュ

ータ 16 からの信号によりシャッター 3 を開放すると、光源 1 からの光束は DM D 7 上に形成されたパターンに応じて空間に変調され、コンピュータ 16 で送信したパターンと同じパターンをもつ光強度分布を有するようになる。さらに、この光強度分布のパターンを有する光束で試料 12 が照明され、照射された光束によって試料 12 内に蛍光が発生し、発生した試料 12 内の蛍光像を CCD で撮像する。この撮像された画像を第 1 の画像とする。

【0034】

次に、先に生成した 1 次元の周期的な強度分布の位相を 90 度ずらした第 2 のパターンをコンピュータ 16 で作成し、同様にして、このパターンを試料 12 に照射し、照射された光によって発生した試料 12 内の蛍光像を CCD 15 で撮像する。この撮像された画像を第 2 の画像とする。さらに、一番最初の 1 次元の周期的な強度分布の位相を 180 度ずらした第 3 のパターンをコンピュータ 16 で作成し、同様に、このパターンを試料 12 に照射し、照射された光によって発生した試料 12 内の蛍光像を CCD 15 で撮像する。この撮像された画像を第 3 の画像とする。第 1、第 2、第 3 の画像の輝度分布をそれぞれ I_0 、 I_{90} 、 I_{180} と記すことにすると、コンピュータ 16 内によって、

【数 1】

$$I_{os} \propto [(I_0 - I_{90})^2 + (I_{90} - I_{180})^2]^{1/2}$$

の演算を行うことによって、光学断層像が得られる。

【0035】

また、

【数 2】

$$I_{cv} \propto I_0 + I_{180}$$

の演算を行うことによって、光学断層像でない像、すなわち通常の顕微鏡像とが得られる。このようにして得られた、光学断層像と光学断層像でない像（通常の顕微鏡像）はコンピュータ 16 内のメモリに記憶されるとともにモニター 40 に表示される。

【0036】

上記において1次元の周期的な強度分布をもつパターンの周期を可変することができる。パターンの空間的周期を与える空間的周波数を変えることはコンピュータ16上で容易に指定できる。得られた光学断層像を見て、その厚さが厚いようであれば、1次元の周期的な強度分布をもつパターンの周期を短くして、上記と同様な過程を繰り返すことにより新たな光学断層像（前の光学的断層像より厚い段像像）を得ることができる。このようにして、最適な厚さの光学断層像を得ることができる。

【0037】

なお、上記では位相シフトが90°の場合を述べたが、位相シフトを120度にしても良い。この場合は、上記と同様な過程を経て得られた、第1の画像（位相シフトが0度の画像）を I_0 、第2の画像（位相シフトが120度の画像）を I_{120} 、第3の画像（位相シフトが240度の画像）を I_{240} とすれば、光学断層像は、

【数3】

$$I_{os} \propto [(I_0 - I_{120})^2 + (I_{120} - I_{240})^2 + (I_{240} - I_0)^2]^{1/2}$$

を用いて計算され、通常の顕微鏡像は、

【数4】

$$I_{\infty} \propto I_0 + I_{120} + I_{240}$$

で計算される。

【0038】

また、上記以外に位相シフト量が既知であれば任意量の位相シフトを行っても良い。ただし、少なくとも3つの異なる位相シフト量によって得られた画像を用いる必要がある。

【0039】

また、上記では1次元の周期的な強度分布をもつパターンを用いた場合を説明したが、これ以外に2次元の周期的な強度分布を持つパターン、例えば、市松模

様のようなパターンを用いて位相シフトを行っても良い。

【0040】

上述のように、試料12に投影すべき照明パターンをコンピュータ16上で容易に指定することができるので、試料12の観察中においてもその試料12の状態や蛍光量に応じて、自由にかつ迅速に光学断層像の厚さを可変設定することができる。

【0041】

さらに、DMD7の各マイクロミラーは2次元的に等間隔に高精度で配置されているので、例えばグレーティング等を移動させて位相シフトを行う場合に比べて、移動量の誤差に伴う位相シフト量の誤差が発生せず、確実に所望の位相シフトを与えることができるといった利点がある。

【0042】

また、DMD7を使えば試料12に照射すべきパターンの形状のみならず、その2次元的な強度分布も容易に調整することができるので試料12にとって最適な強度分布を選択することができるといった利点がある。

【0043】

また、光源1に白色光源を用い、励起フィルタ9、ダイクロイックミラー10、蛍光フィルタ13を適当に変えることにより任意の波長領域の信号を抽出でき、あらゆる蛍光色素や蛍光タンパク質に対応することができ、レーザー走査型顕微鏡の場合のように励起光の波長が特定波長のレーザーに制約されずに光学断層像が得られるといった利点もある。

【0044】

なお、図1に示すDMD7は空間光変調器の一例であり、DMD7の代わりに反射型液晶デバイスを用いてもよく、この場合においても蛍光あるいは反射光を検出し光学断層像を得ることができる。

【0045】

以下、上述の本発明の適用例について説明する。

以下に説明する適用例は、深度応答の測定に関するものである。この深度の大きさが光学断層像の厚さに相当する。

まず、本発明を適用した顕微鏡の性能を確認するために深度応答を測定した。試料 12 には蛍光薄膜を用いた。この蛍光薄膜は、カバーガラスの表面にローダミン 6 G とポリメチルアクリレートの混合物をスピンコートしたものであり、厚さは約 50 nm である。励起フィルタ 9 には、中心波長 475 nm、透過波長幅 40 nm の励起フィルタを用いた。ダイクロイックミラー 10 には、波長 505 nm 以下を反射し、505 nm 以上を反射するダイクロイックミラーを用いた。蛍光フィルタ 13 には、中心波長 535 nm、透過波長幅 45 nm の蛍光フィルタを用いた。対物レンズ 11 には倍率が 40 倍、開口数 1.35 の油浸対物レンズを用いた。この蛍光薄膜をステージにのせ、光軸方向に移動させながら、各ステージ位置で計算された光学切断像の強度を測定した。

【0046】

図 2 に深度応答を測定した結果を示す。また、同様な実験を投影する縞の間隔を変えて行った。図 2 には、一例として、縞の一周期を DMD 7 素子上において 8、16、32 マイクロミラーになるようにした。これらの値は試料面において照射される縞の周期が、2.5 μm 、4.9 μm 、9.8 μm にそれぞれ相当する。図 2 に示されているように、DMD 7 素子上の空間的周期を大きくすると、深度応答の半値全幅が広くなる、すなわち、光学断層像の厚さが厚くなる。これにより、DMD 7 素子上の空間的周期を変えることにより所望の厚さの光学断層像を得ることが可能であることがわかる。

【0047】

次に、DMD 7 上の縞の周期と深度応答の半値全幅の関係を調べた。図 3 に DMD 7 上の縞の周期と深度応答の半値全幅の関係を示す。上記と同様な実験を縞の周期を変えて深度応答を測定し、得られた深度応答からその半値全幅を求め、それと縞の周期との関係を調べた。図 3 により、縞の周期を大きくすると、深度応答の半値全幅、すなわち光学断層像の厚さが線形に変化することが確かめられた。これにより、投影する縞の周期を変えることにより確実に深度応答の半値全幅、すなわち、光学切片の厚さを自由にかつ確実に変えることができる。

【0048】

次に、図 6 及び図 7 を参照して、試料 12 の観察する場所に依存して分割し、

分割した領域毎に光学断層像の厚さDを設定する複数分割光学断層像について説明する。

図6において、神経細胞50は細胞体51と細胞体51の両側に樹状突起52とを有する。神経細胞50を細胞体51を占める領域Aと樹状突起52を示す両側の領域B、領域Cとに分割して考える。領域Aは細胞体51を観察する上で光学断層像の厚さをD1と小さく設定することが好ましく、領域Bは樹脂突起52が中程度の深さで屈曲しているので光学断層像の厚さをD2とやや厚くすることが好ましく、領域Cは樹脂突起52が大きな深さで屈曲しているので光学断層像の厚さをD3と大きく設定することが好ましい。

【0049】

このためには、図7に示すように、DMD7素子上を、領域A、領域B及び領域Cに対応する領域a、領域b及び領域cに分割し、DMD7の領域a、領域b及び領域cの各々の空間的周期を独立に設定し、光学断層像の厚さDがD1、D2及びD3になるようにすればよい。領域A、領域B及び領域Cの光学断層像は一つの共通のモニター40上で同時に表示される。

【0050】

上述のように、空間光変調器としてのDMD7を制御器18で複数の領域毎に異なる空間的周期を設定することにより、試料12の観察個所に応じた適正な光学断層像の厚さを設定することができ、1つの画面上で試料12の複数の観察個所を同時に観察することが可能になる。

【0051】

次に、本発明の第2の実施の形態について説明する。

図4は本発明による第2の実施の形態の概略構成を示す図でものもので、図1と同一部分には同一符号を付してその詳しい説明は省略する。

【0052】

第2実施例の顕微鏡は、空間光変調器として、透過型の空間光変調器、具体的に例えば、透過型液晶デバイス71等を用いて構成されている。

【0053】

この場合、光源1とダイクロイックミラー10を結ぶ光軸上にコレクタレンズ

2、シャッター3、拡散板4、レンズ5、液晶デバイス71、レンズ8、励起フィルタ9が配置されている。液晶デバイス7は2次元上に配置された複数の液晶の画素から構成されており、これらの複数の液晶画素によって照射面71aが形成されている。各画素はそれぞれ独立に制御器18からの電気信号によってその画素の透過率を変えることができる。したがって、液晶デバイス71を構成する全ての画素ごとに、その透過率を独立に変えることによって光源1から導かれた光の液晶デバイス71の強度分布に、液晶デバイス71によって空間的な変調をかけることができる。また、液晶デバイス71で空間変調がかけられた光源1からの光の強度分布は、試料12面上に縮小投影されて照明される。

【0054】

このように上記第2の実施の形態においては、光源1からの光をパターンを自由に変えることができる液晶デバイス71によって空間的に強度分布を変調するようにしたので、上記第1の実施の形態と同様な効果を奏する。

【0055】

次に、本発明の第3の実施の形態について説明する。

図5は本発明による第3の実施の形態の概略構成を示す図でものもので、図1と同一部分には同一符号を付してその詳しい説明は省略する。

【0056】

この場合、DMD7で反射した光は顕微鏡本体に導入される。DMD7の法線上にレンズ8、励起フィルタ9、平面鏡19が配置されている。平面鏡19で反射した光は、対物レンズ20を通過して試料12を照明する。

【0057】

顕微鏡本体の観察光路には、対物レンズ11、蛍光フィルタ13、結像レンズ14、CCDカメラ15が配置されている。試料で発した蛍光は、対物レンズ11を通過して平行光束に変換されたあと、蛍光フィルタ13で所定の波長域が選択的に透過した後、結像レンズ14によりCCDカメラ15の撮像面上に結像し撮像される。

【0058】

対物レンズ20、対物レンズ11の双方あるいはいずれかの一方は、光軸方法

に微動させることができるようになっており、対物レンズ 20 の焦点位置と対物レンズ 11 の焦点位置は予め一致させるように調整しておく。

【0059】

このように構成にすれば、光源 1 を点灯すると、光源 1 から発した光は、コレクタレンズ 2 により平行光束に変換され、拡散板 4 で拡散された後、レンズ 5 と通り、平面鏡 6 で反射された後、DMD 7 を照明する。

【0060】

DMD 7 に入射した光は、DMD 7 上に形成されたパターンに応じてその光強度分布が変調された後、レンズ 8 を通り、励起フィルタ 9 を通り、平面鏡 19 で反射され、対物レンズ 20 を通して試料 12 に照射される。試料 12 では、この照射された光の強度分布に応じてその内の蛍光物質が励起され蛍光を発する。発した蛍光は対物レンズ 11 を通り、蛍光フィルタ 13、結像レンズ 14 を通過し、CCD カメラ 15 で撮像される。撮像された画像はコンピュータ 16 内のフレームグラバに取り込まれる。

【0061】

従って、このように上記第 3 の実施の形態においては、光源 1 からの光をパターンを自由に変えることができる DMD 9 によって空間的に強度分布を変調するようにして試料 12 を照明し、試料 12 からの蛍光を CCD カメラ 15 で撮像するようにしたので、第 1 の実施の形態と同様な効果を奏する。

【0062】

さらに、ダイクロイックミラーを用いる必要がないので、そのダイクロイックミラーの反射および透過特性に左右されないため、励起フィルタ 9 および蛍光フィルタ 13 の選択の自由度が大幅に増加するという利点がある。

【0063】

また、高価なダイクロイックミラーを用いる必要がないため、価格的にも安価となる。

【0064】

【発明の効果】

以上説明したように、本発明の構成によれば、制御電気信号によって照射面の

反射特性または透過特性を指定される空間的周波数で空間的変調可能であるので、試料の観察中においても光学断層像の厚さを所望な値に迅速に設定することができる。

【 0 0 6 5 】

また、空間的変調手段の照射面を複数の領域に分割し、分割した各々の領域毎に個別的に空間的周波数を設定可能であるので、試料の観察領域に適した光学断層像の厚さを個別的に設定することが可能になる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の第1の実施の形態の概略構成を示す図である。

【図 2】

第 1 の実施の形態における深度応答を示す図である。

【図 3】

第 1 の実施の形態における投影すべき縞の周期と深度応答の半値幅の関係を示す図である。

【図 4】

本発明の第 2 の実施の形態の概略構成を示す図である。

【図 5】

本発明の第 3 の実施の形態の概略構成を示す図である。

【図 6】

光学断層像の厚さを個別的に設定することを求める試料の分割された観察領域の断面を模式的に示す図。

【図 7】

試料の分割された観察領域に対応して複数の領域に分割された DMD の照射面を示す図。

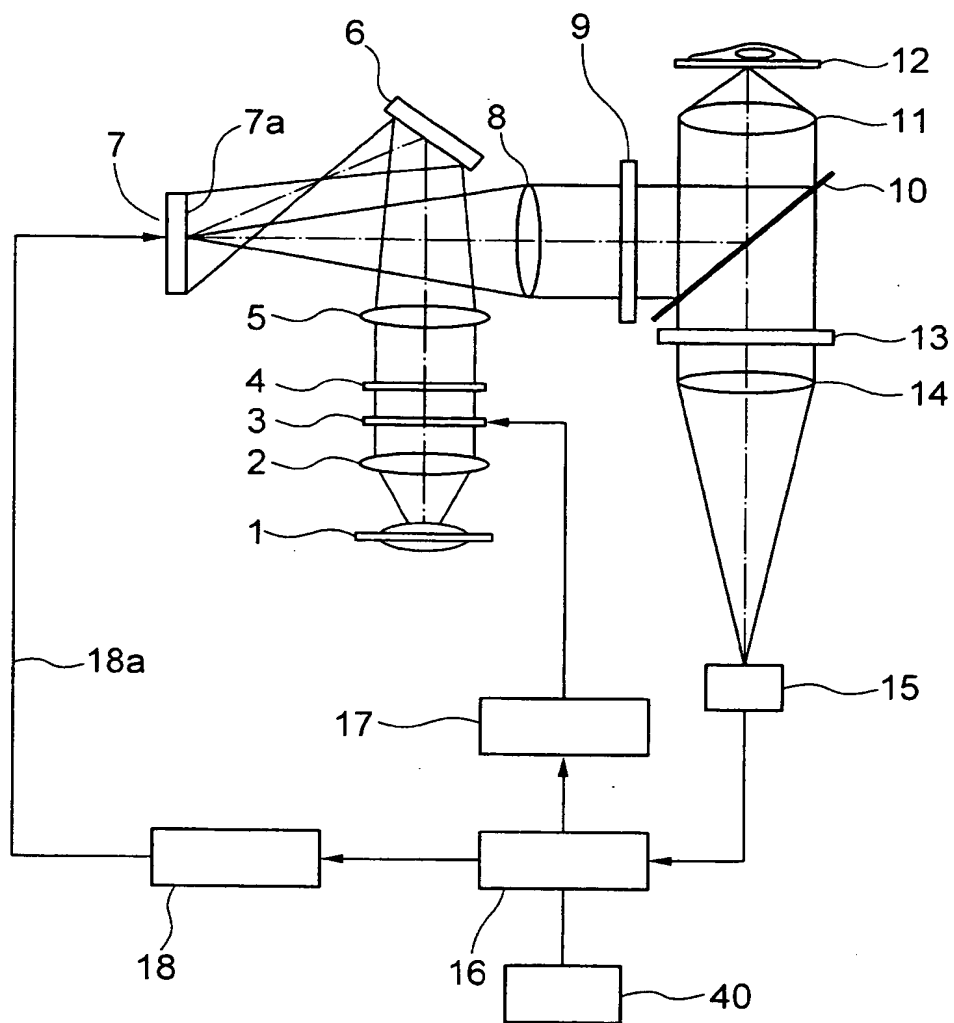
【符号の説明】

- 1 光源
- 2 レンズ
- 3 シャッター

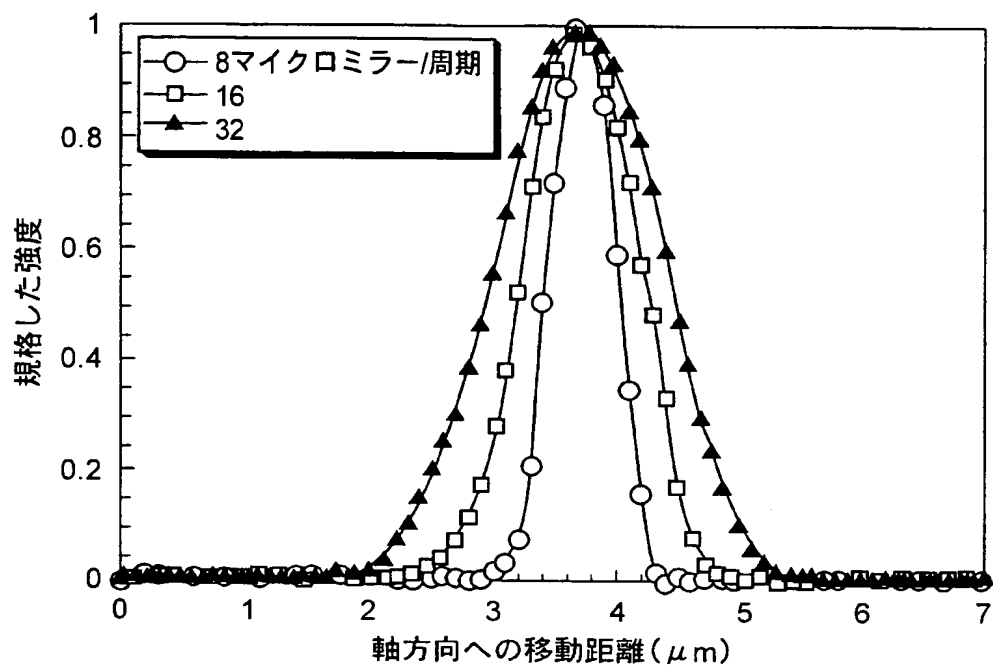
- 4 拡散板
- 5 レンズ
- 6 平面鏡
- 7 DMD
- 7 a DMDの照射面
- 8 レンズ
- 9 励起フィルタ
- 10 ダイクロイックミラー
- 11 対物レンズ
- 12 試料
- 13 蛍光フィルタ
- 14 結像レンズ
- 15 CCDカメラ
- 16 コンピュータ
- 17 制御器
- 18 制御器
- 18 a 電気信号
- 19 平面鏡
- 20 対物レンズ
- 40 モニター
- 50 神経細胞
- 51 細胞体
- 52 樹状突起
- 71 液晶デバイス
- 71 a 液晶デバイスの照射面

【書類名】 図面

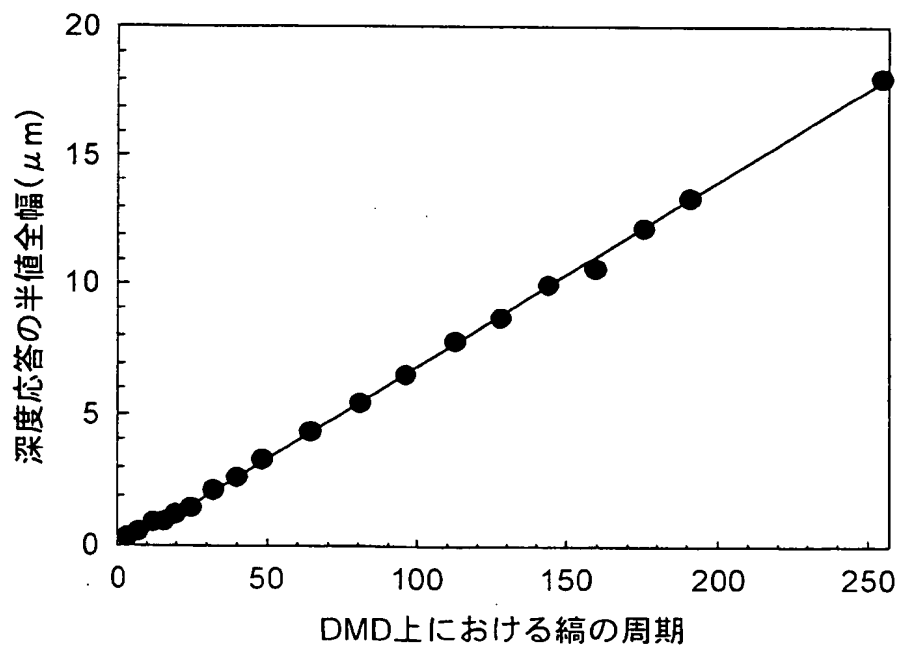
【図 1】



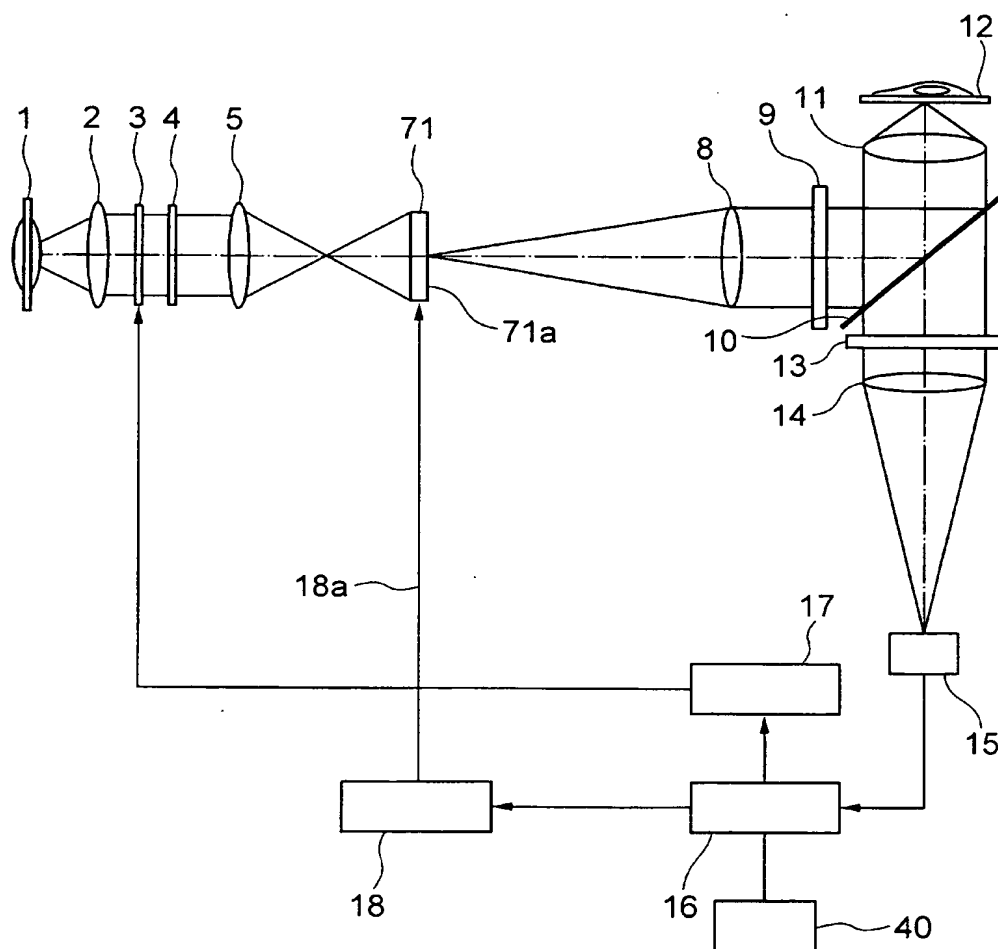
【図 2】



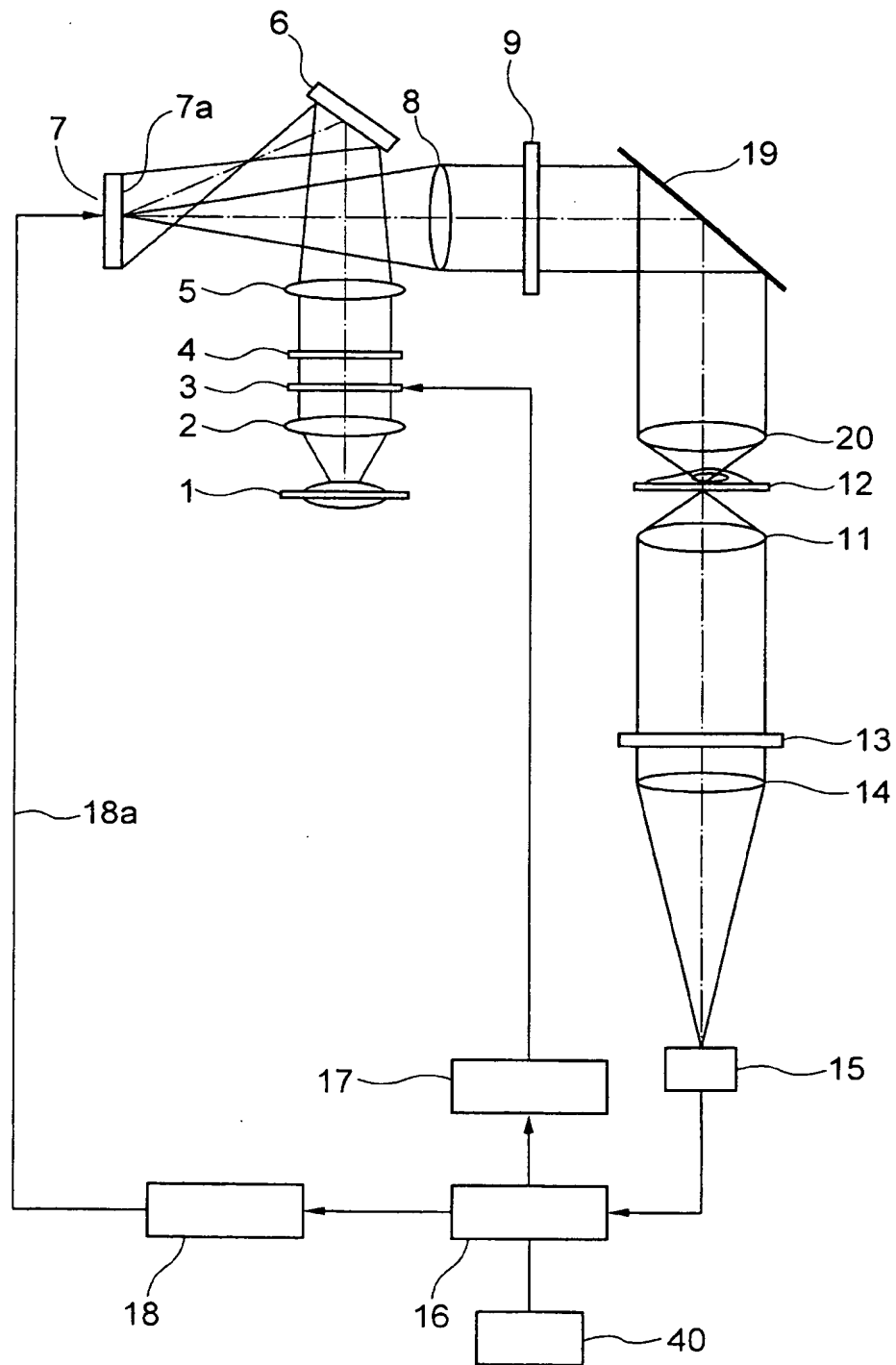
【図 3】



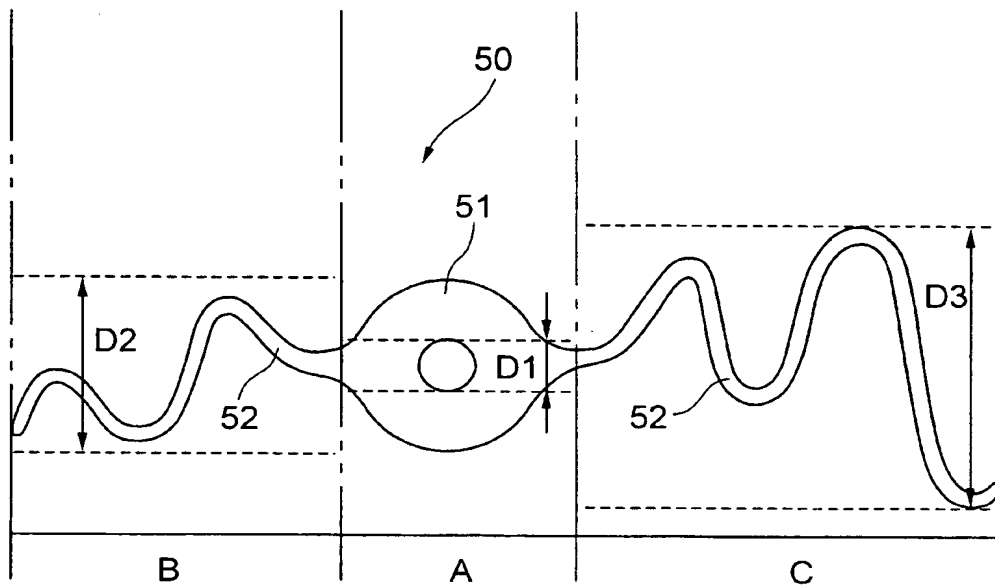
【図 4】



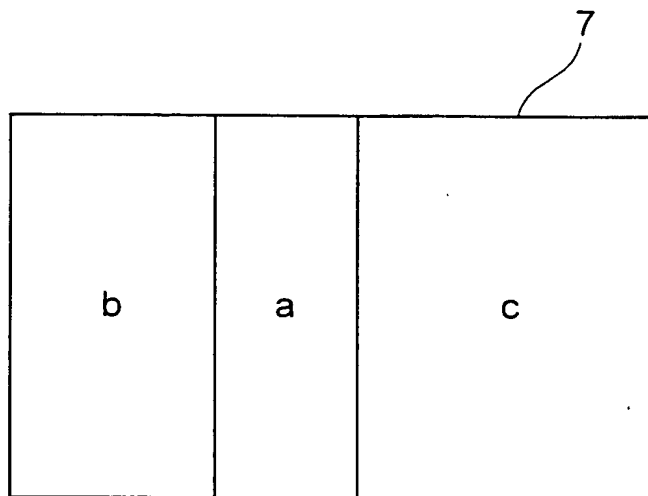
【図 5】



【図 6】



【図 7】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 試料の観察中においても光学断層像の厚さを所望な値に迅速に設定可能な顕微鏡装置を提供する。

【解決手段】 顕微鏡装置は、制御電気信号（18a）を生成する制御手段（18）と、光源（1）から出射した光束が照射される照射面（7a）を有し、制御電気信号を受け照射面の反射特性または透過特性を制御電気信号で指定される空間的周波数で空間的変調可能な空間的変調手段（7）と、空間的変調手段によって空間的変調された光束を試料（12）に照射する照射光学手段（8，11）と、照射光学手段によって照射され試料から生じる信号光からなる信号画像を検出する画像検出手段（15）と、制御手段によって空間的周波数に係る異なる少なくとも3個の位相を設定し、各々の位相毎に画像検出手段によって検出した信号画像を互いに演算し光学断層像を求める演算手段（16）と、を備えることを特徴とする。

【選択図】 図1

特願 2 0 0 2 - 2 7 0 2 0 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 6 7 9 2]

1 . 変 更 年 月 日

1 9 9 0 年 8 月 2 8 日

[変 更 理 由]

新 規 登 録

住 所

埼 玉 県 和 光 市 広 沢 2 番 1 号

氏 名

理 化 学 研 究 所